

Denitryfikacja wody pitnej

Wojciech Burda¹

Paweł Cyplik¹

Tomasz Matyszka¹

Aleksandra Twardowska²

¹Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności
Akademia Rolnicza
Poznań

²Zakład Technologii Uzdatniania Wody
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
Poznań

1. Wstęp

Usuwanie azotanów z wody pitnej stanowi bardzo poważny problem w technologii uzdatniania wody. Dotyczy to w szczególności krajów silnie uprzemysłowionych, zwłaszcza z rozwiniętym rolnictwem (Stany Zjednoczone, Holandia, Niemcy). Również w niektórych rejonach naszego kraju stężenie azotanów w wodzie przekracza dopuszczalne normy.

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) dopuszcza maksymalne stężenie N-NO₃ w wodzie pitnej do 10 mg/l, natomiast państwa Unii Europejskiej normę tę ustaliły na poziomie 5 mg/l, a w dalszej perspektywie będzie ona jeszcze bardziej zaostrzona (1). Przyczyną usuwania azotanów z wody pitnej jest ich szkodliwe działanie na organizm człowieka. Wykazano bezpośrednie właściwości kancerogenne nitrozoamin, powstających w wyniku redukcji azotanów do azotynów i reakcji tych ostatnich z aminami i amidami drugorzędowymi.

2. Sposoby usuwania azotanów

W technologii uzdatniania wody znane są różne metody oczyszczania wody z azotanów, w tym wymiana jonowa, odwrócona osmoza, elektrodializa, redukcja chemiczna i denitryfikacja mikrobiologiczna.

Najprostszym sposobem usuwania azotanów jest mieszanie wody o wysokim stężeniu azotanów z wodą czystą. W efekcie otrzymujemy wodę o zawartości azotanów zgodną z dopuszczalnymi normami. Przy braku dostępno-

ści do wody o małej zawartości azotanów konieczne jest stosowanie obróbki wody. Jednym ze sposobów usuwania jonów NO_3^- jest adsorpcja na żywicach jonowymiennych.

Wymiana jonowa jest metodą często stosowaną w technologii uzdatniania wody. Stosowane są dwa rodzaje jonitów: selektywne i nieselektywne. Te pierwsze stosowane są w sytuacji, gdy oprócz jonów azotanowych występuje duża ilość jonów siarczanowych (2). Jony te są konkurencyjne, gdyż mają większe powinowactwo niż azotany do jonitu nieselektywnego. Zastosowanie jonitu selektywnego zwiększa szansę na pełne usunięcie azotanów. Wyciszenie jonitów anionami powoduje konieczność okresowej regeneracji jonitów za pomocą kilkuprocentowych roztworów soli. Dzięki zastosowaniu zestawu kilku kolumn można prowadzić proces w sposób ciągły. Dużą zaletą tego procesu jest to, że nie ma potrzeby wprowadzania do wody dodatkowych substancji obcych. Wadą zaś, jest uciążliwy dla środowiska odpad poregeneracyjny, zawierający dużo azotanów, siarczanów i chlorków, podwyższenie korozyjności wody, stopniowa utrata pojemności adsorpcyjnej jonitu i konieczność uśredniania składu chemicznego wody (3).

Usuwanie azotanów z wody pitnej można też przeprowadzić za pomocą filtracji membranowej stosując metodę odwróconej osmozy. Polega ona na usunięciu azotanów z roztworu dzięki przyłożonemu ciśnieniu dynamicznemu, które powoduje przechodzenie cząsteczek wody przez półprzepuszczalną błonę. Ze względu na wysokie koszty metoda ta jest jednak mało przydatna do uzdatniania dużych ilości wody. Metody elektrodializy i redukcji chemicznej są na etapie badań laboratoryjnych i dotychczas nie znalazły zastosowania w praktyce.

Opisane procesy umożliwiają jedynie oddzielenie azotanów od roztworu. Pełne usunięcie azotanów poprzez ich redukcję do azotu gazowego możliwe jest tylko przy zastosowaniu metod biologicznych. Możliwe są tutaj dwa rozwiązania: denitryfikacje przy użyciu mikroorganizmów heterotroficznych lub autotroficznych. W procesie denitryfikacji heterotroficznej prowadzące ten proces mikroorganizmy jako źródło węgla i donorów elektronów wykorzystują związki organiczne, najczęściej jest kwas octowy, metanol i etanol. Natomiast, autotrofy wykorzystują węgiel nieorganiczny (CO_2 , HCO_3^-), zaś energię uzyskują z utlenienia takich związków jak: Fe^{2+} , H^+ , różne postaci siarki.

3. Organizmy

Organizmy denitryfikujące są wszechobecne. Znalaziono je w glebie wszystkich stref klimatycznych, mulach, osadach, wodach słodkich i morskich, ściekach, gorących źródłach.

Ogólnie proces całkowitej biodenitryfikacji można przedstawić według następującego schematu:

azotany → azotyny → tlenek azotu → podtlenek azotu → azot cząsteczkowy.

Bakterie denitryfikujące na ogół nie posiadają genów kodujących wszystkie enzymy prowadzące proces denitryfikacji i dlatego poszczególne orga-

niższy katalizują tylko niektóre etapy redukcji azotanów. Na tej podstawie dzieli się bakterie denitryfikujące na cztery grupy (4): (*) redukujące azotany do azotynów, (**) redukujące azotany do podtlenku azotu, (***) redukujące azotyny do azotu cząsteczkowego i (****) redukujące azotany do azotynów oraz tlenek azotu do podtlenku azotu.

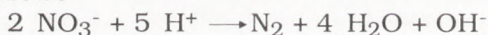
Autotrofy korzystają z węgla nieorganicznego. Energię czerpią z utleniania różnych związków nieorganicznych, wykorzystując azotany jako końcowy akceptor elektronów. Przykładem takich mikroorganizmów są bakterie z rodzaju *Paracoccus*, które jako źródło energii wykorzystują wodór. Bakterie te są względnie autotrofami wrażliwymi na jony azotynowe i wysokie stężenie jonów wodorowych (5-7). Ścisłym autotrofem jest *Ferrobacillus ferrooxidans* — bakteria ta, jak i bakterie z rodzajów *Gallionella*, *Leptothrix*, *Sphaerothillus* wykorzystują do produkcji energii jon żelazawy (8). Bakterie z rodzaju *Thiobacillus* i *Thiosphaera* utleniają zredukowane związki siarki, takie jak: S^{2-} , S_2O_3 , SO_3^{2-} , a także siarkę cząsteczkową. W normalnych warunkach *Thiobacillus denitrificans* wykorzystuje tlen do utlenienia siarki, natomiast w warunkach beztlenowych jako akceptor elektronów wykorzystywane są azotany. Zarówno *Paracoccus*, jak i *Thiobacillus* w obecności węgla organicznego zachowują się jak heterotrofy (8).

Grupa bakterii heterotroficznych zdolnych do redukcji azotanów jest znacznie większa niż autotroficznych i obejmuje długą listę rodzajów i gatunków.

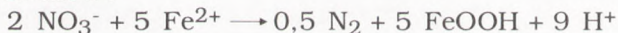
4. Biochemiczne aspekty denitryfikacji

Pomijając zużycie substratów na budowę struktur komórkowych i utrzymanie funkcji życiowych proces denitryfikacji autotroficznej można ogólnie przedstawić za pomocą następujących reakcji:

1. Bakterie wodorowe



2. Bakterie żelazowe



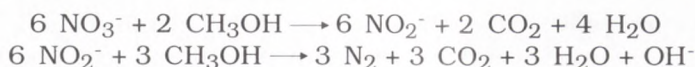
3. Bakterie siarkowe



W wyniku usunięcia 1 mg N- NO_3^- powstaje 7,6 mg SO_4^{2-} , stąd metody tej nie można stosować dla uzdatniania wody o wysokim stężeniu siarczanów z uwagi na możliwość przekroczenia norm ich zawartości (200 mg/l). Stosowanie denitryfikacji autotroficznej powoduje również zmniejszenie alkaliczności wody.

Heterotroficzne bakterie denitryfikujące dla przeprowadzenia procesów życiowych (wzrost, oddychanie) potrzebują źródła węgla organicznego. Używane źródła węgla są bardzo różnorodne. Są nimi m.in. alkohole, glukoza, octany, kwas mrówkowy, a także odpady przemysłowe, takie jak: melasa, serwatka, odpady podestylacyjne. Jednak dla denitryfikacji wody pitnej jako źródło węgla organicznego używamy przede wszystkim: metanolu, etanolu i kwasu octowego.

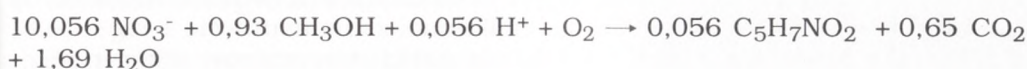
Denitryfikację prowadzoną przez bakterie z wykorzystaniem metanolu jako źródła węgla można przedstawić jako dwustopniową reakcję:



Natomiast reakcję energetyczną



Zwykle część węgla jest zużywana na syntezę biomasy komórkowej, co można przedstawić następującym równaniem:



gdzie $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ przedstawia azot zawarty w składnikach komórki.

Zapotrzebowanie na metanol wzrasta odpowiednio z obecnością rozpuszczonego tlenu. W praktyce do syntezy komórki bakteryjnej zapotrzebowanie na metanol wynosi między 25 a 30%. Na 1 kg usuwanego NO_3^- potrzeba 3kg metanolu.

Heterotroficzną denitryfikację prowadzoną przez bakterie z wykorzystaniem innych związków jako źródeł węgla przedstawiają równania:

— dla etanolu:



— dla kwasu octowego:



5. Czynniki wpływające na proces denitryfikacji

5.1. Temperatura i pH

Temperatura i odczyn wody wpływają na szybkość procesu denitryfikacji poprzez oddziaływanie na konformację przestrzenną enzymów przez co decydują o powinowactwie enzymu do substratu i o szybkości reakcji. Mimo że enzymy działają w ograniczonym zakresie pH i temperatury, to istnieją wartości optymalne w których proces przebiega najszybciej. Dobór prawidłowej temperatury i pH jest szczególnie ważny w procesach prowadzonych na dużą skalę. Denitryfikatory redukują azotany w szerokim zakresie temperatur, od 5 do 70°C, przy czym optimum temperatury mieści się w granicach 15-37°C (1,9-

11). Redukcja azotanów przebiegała w pH od 4,4 do 7,8, optimum zaś zbliżone jest do pH = 7,0 (9,10,12,13). Zaobserwowano także większą wrażliwość denitryfikatorów na środowisko kwaśne niż zasadowe. Oprócz tego zarówno pH jak i temperatura wpływają na końcowe produkty denitryfikacji. W temperaturach niskich i bardzo wysokich głównym produktem jest podtlenek azotu, a w optymalnej temperaturze azot cząsteczkowy. W niskim pH produkowany jest podtlenek azotu, a w pH około 6,0 produktem jest azot cząsteczkowy (11).

5.2. Stężenie siarki i wodoru

Odpowiedni stosunek S do N jest bardzo ważny dla bakterii siarkowych wykorzystujących zredukowane związki siarki. Dla tiosiarczanów winien on być nie mniejszy niż 4,30, gdyż w przeciwnym razie gromadzą się azotyny i denitryfikacja zostaje zahamowana. Obliczono, że na usunięcie 1 mg N-NO_3^- potrzeba 3,86 mg tiosiarczanów i 2,55 mg siarki elementarnej. Eksperymentalne wielkości różnią się dla poszczególnych gatunków i wynoszą w granicach 3,0 – 3,3. Dla bakterii wodorowych jako źródło energii wymagana jest odpowiednia ilość wodoru. Teoretycznie, na usunięcie 1 mg N-NO_3^- potrzeba 3,35 mg wodoru. Eksperymentalnie ustalona wartość była nieznacznie wyższa i wynosiła od 3,8 do 4,0 mg wodoru (8).

5.3. Tlen

Występujące w przyrodzie bakterie denitryfikujące cechują się różną wrażliwością na obecność rozpuszczonego tlenu w wodzie. W badaniach przeprowadzonych nad szybkością denitryfikacji wykazano, że im mniejsze stężenie tlenu tym szybkość procesu jest większa (11). Podobnie jak transport elektronów w łańcuchu oddechowym, tak i transport elektronów w procesie denitryfikacji przebiega przez cały system białek przENOŚNIKOWYCH — cytochromów. Ruch elektronów jest możliwy dzięki istniejącej różnicy potencjałów oksydoredukcyjnych między poszczególnymi składnikami łańcucha. U *Paracoccus denitrificans* tlen warunkuje syntezę cytochromu aa_3 . Przy niskich stężeniach tlenu lub w warunkach beztlenowych syntetyzowany jest cytochrom cd, który pośredniczy w przekazywaniu elektronów na azotyny. Z tego wynika, że w obecności tlenu elektrony są przekazywane nie na utlenione związki azotu, lecz na tlen. Efektem tego jest zmniejszenie szybkości denitryfikacji bądź jej całkowite zahamowanie (10,14,15).

Tlen wpływa również na przepuszczalność błon komórkowych dla azotanów. Przy dużym stężeniu tlenu azotany nie są przepuszczane przez błonę komórkową bakterii. Mechanizm tej regulacji jest związany z lokalizacją reduktazy azotanowej. Tlen, regulując przepuszczalność, wpływa na dopływ substratu do enzymu, a co za tym idzie na szybkość procesu. Mechanizm ten potwierdzają, jak się wydaje, badania nad *Paracoccus denitrificans* (10). W procesach uzdatniania wody obecność tlenu w wodzie przeznaczonej do obróbki technologicznej może stanowić bardzo poważny problem, dotyczący przede wszystkim systemów z powierzchniowymi ujęciami wody.

5.4. Inhibitory

Reduktazy, które prowadzą proces denitryfikacji mogą pod wpływem różnych związków chemicznych ulegać inhibicji. Może to powodować całkowite zahamowanie procesu, bądź też zmniejszyć jego szybkość. W wielu przypadkach mechanizm działania inhibitorów na enzymy nie został do końca poznany. Inhibitory wpływające na proces denitryfikacji można podzielić na trzy grupy:

- 1) blokujące tylko jeden enzym, np. tlenek węgla,
- 2) blokujące więcej niż jeden enzym, np. cyjanek,
- 3) wpływające na różne enzymy w zależności od stężenia, np. siarczki (10).

6. Biotechnologie stosowane do denitryfikacji wody

Rozważając praktyczne możliwości denitryfikacji wody, można brać pod uwagę następujące układy technologiczne:

- biologicznie zasiedlone złoża stałe lub fluidalne,
- zastosowanie różnych nośników z immobilizowanymi komórkami denitryfikatorów,
- łączenie metod fizycznych i biologicznych w postaci wymiany jonowej z biologiczną denitryfikacją solanki regeneracyjnej oraz
- denitryfikację pod ziemią poprzez wymuszoną infiltrację wody w warstwie wodonośnej po uprzedniej iniekcji pokarmu (źródła węgla organicznego) dla bytujących naturalnie w glebie organizmów denitryfikujących.

Ostatnie z tych rozwiązań jest kwestionowane przez wielu autorów, którzy wskazują na niską wydajność procesu oraz niebezpieczeństwo zamulania warstwy wodonośnej przez nagromadzenie biomasy. Mimo to instalacje takie już pracują w skali pilotowej (np. NITREDOX) (16).

Podstawową metodą denitryfikacji wody jest stosowanie procesów opartych na wykorzystaniu bakterii heterotroficznych, przy czym możliwe są dwa podstawowe rozwiązania technologiczne: (*) wykorzystanie bakterii immobilizowanych w złożu fluidalnym oraz (**) denitryfikacja w złożu stałym.

W przypadku wykorzystania do denitryfikacji wody organizmów autotroficznych, możliwości projektowania instalacji są ograniczone do następujących systemów: (*) wykorzystanie bakterii siarkowych, np. z rodzaju *Thiobacillus*, zasiedlających złoża stałe utworzone z granul siarki i wapienia (13,17-23) oraz (**), a także bakterii wodorowych, np. z rodzaju *Paracoccus* porastających sztuczny nośnik porowaty, np. gąbki poliuretanowe (24-26).

Poniżej omówiono poszczególne rozwiązania biotechnologiczne.

6.1. Denitryfikacja w złożu siarkowo-wapiennym

Złoże siarkowo-wapienne zostało po raz pierwszy zastosowane do denitryfikacji ścieków (21). Później technologia ta została zaadaptowana do usuwania azotanów z wody pitnej (17).

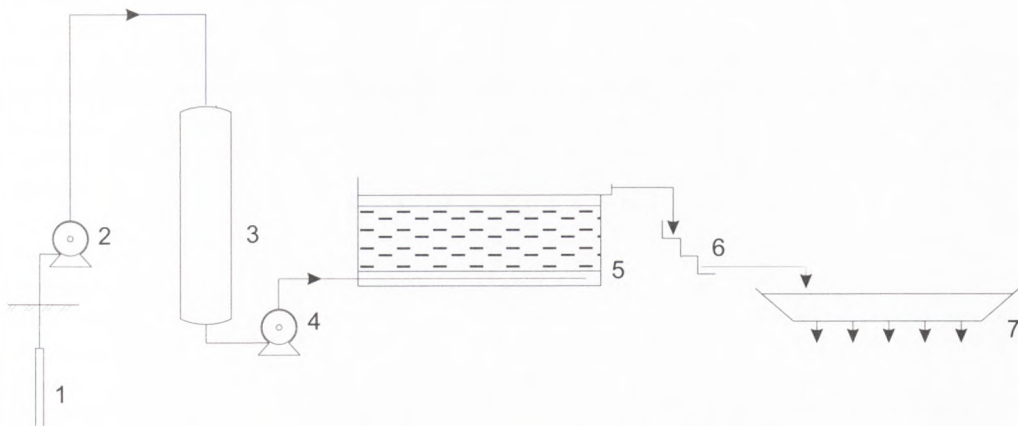
Proces filtracji siarkowo-wapiennej opiera się na autotroficznej denitryfikacji przez *Thiobacillus denitrificans*. W warunkach beztlenowych azotany zamieniane są w gazowy azot. Siarka elementarna, będąca donorem elektronów, jest przekształcana w siarczany, natomiast wapienie pozwala utrzymywać optymalne pH (6,4 – 6,8) oraz stanowi źródło węgla nieorganicznego. Zarówno siarka jak i wapienie są stosowane w postaci granul o wymiarach 2-6 mm, na powierzchni których dochodzi do adhezji komórek. *Thiobacillus denitrificans* redukuje azotany jedynie w warunkach beztlenowych, co wymaga usuwania tlenu z wody dopływającej do instalacji. Przy małej zawartości tlenu możliwe jest pominięcie zabiegu, gdyż jest on w całości zużywany w obrębie pierwszych centymetrów złoża. Wpływa to jednak ujemnie na wydajność procesu, stąd na ogół stosuje się usuwanie tlenu przed dopływem wody do reaktora. Można to osiągnąć poprzez reakcję tlenu z dwusiarczkiem sodu (21) lub poprzez odgazowanie wody przy obniżonym ciśnieniu (13,18,19,23). Z uwagi na toksyczne i korozyjne właściwości dwusiarczku sodu nie stosuje się go w instalacjach przemysłowych.

Obecnie znanych jest kilka metod różniących się sposobem sterowania działaniem złoża siarkowo-wapiennego. Można tu wyróżnić dwa kierunki:

- częste przemywanie złoża w celu usunięcia zgromadzonej biomasy odpowiedzialnej za spadek wydajności procesu,
- prowadzenie procesu zgodnie z założeniami działania filtra powolnego, co pozwala ograniczyć częstotliwość przemywań i zmniejszyć ilość produkowanych ścieków.

W pierwszej metodzie po pewnym czasie nieprzerwanej pracy reaktora nagromadzenie biomasy odpowiedzialne jest za wzrost stężenia azotanów w odpływie z instalacji. Powodem tego jest ograniczenie transportu masy w złożu i utrudniony kontakt jonów z komórkami bakterii (18). Niektórzy autorzy wskazują także, że zanik aktywności denitryfikacyjnej może być skutkiem zmiany populacji bakteryjnej z autotroficznej na bardziej mikso-troficzną w wyniku pojawienia się węgla organicznego pochodzącego ze zgromadzonej, martwej biomasy *Thiobacillus denitrificans* (18). Wówczas gdy stężenie azotanów w odpływie przekroczy graniczny poziom, to działanie reaktora zostaje przerwane, a złoże jest czyszczone. Po oczyszczeniu działanie filtra jest kontynuowane przy maksymalnym obciążeniu. W rezultacie takiego postępowania wydajność produkcyjna instalacji jest stała, ale reaktor musi być wyposażony w urządzenia przemywające (system dystrybucji wody i powietrza) (21).

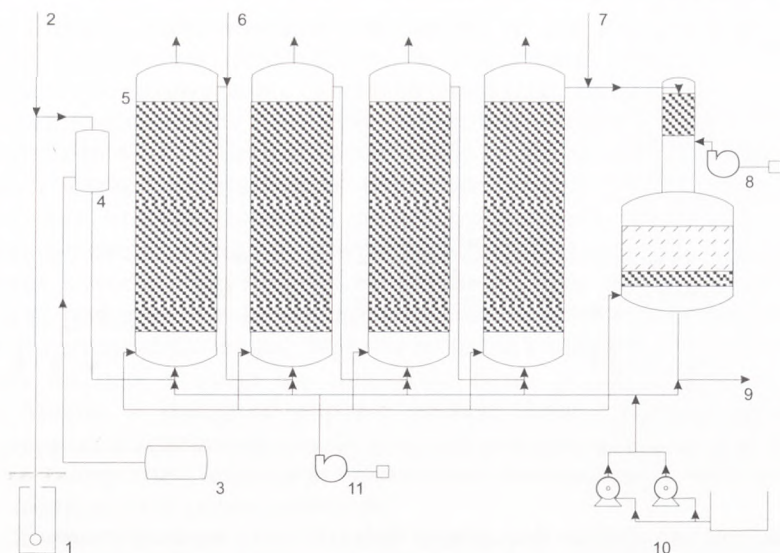
Druuga metoda jest oparta na zastosowaniu filtra powolnego, którego działanie polega na stopniowym zmniejszaniu obciążenia reaktora po zaobserwowaniu wzrostu stężenia azotanów w odpływie. Z powodu zmiennej prędkości przepływu wody wydajność produkcyjna instalacji nie jest stała. W przypadku, gdy instalacja składa się z kilku reaktorów, a każdy z nich rozpoczyna cykl produkcyjny z pewnym przesunięciem czasowym względem poprzedniego, można osiągnąć stałą wydajność procesu. System ten znalazł zastosowanie w skali półprzemysłowej w Montferland (13,18,19,23). Schemat ideowy tej instalacji przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Schemat instalacji do denitryfikacji wody (17): 1 — studnia głębinowa; 2 — pompa; 3 — odpowietrzacz podciśnieniowy; 4 — pompa; 5 — reaktor denitryfikacyjny; 6 — kaskada; 7 — zbiornik infiltracyjny.

Podstawowe znaczenie w technologii wykorzystującej złożę siarkowo-wapienne ma właściwie przeprowadzone odpowietrzanie złoża oraz proces denitryfikacji w złożu. Odpowietrzanie podciśnieniowe prowadzi się w celu usunięcia z surowej wody tlenu oraz gazowego azotu. Usuwanie azotu jest konieczne aby uniknąć przesylenia wody w reaktorze, gdyż może to powodować tworzenie gazowej poduszki lub kanalikowanie złoża. Usuwanie tlenu gwarantuje, że całe złożo redukuje azotany, a siarczany powstają w niewielkiej ilości. Po całkowitym usunięciu azotu i tlenu może być rozpuszczone w wodzie około 22-23 mg N_2 wytworzonego w złożu bez powstawania bąbli. Odpowietrzanie zachodzi w warunkach wytworzonego podciśnienia.

Korzystnym rozwiązaniem jest filtracja przy wprowadzaniu wody od dołu złoża. Taki sposób przepływu zabezpiecza przed powtórным przedostawaniem się azotu lub tlenu do odpowietrzonej wody oraz umożliwia łatwiejsze wydostawanie się bąbli azotu, gdyby mimo wszystko powstawały. Siarka i wapień były używane w różnych stosunkach objętościowych. Badano następujące stosunki S i $CaCO_3$; -1:2, 1:1, 2:1. Kolejnym etapem tej technologii jest natlenienie zdenitryfikowanej wody w celu utlenienia ewentualnych śladowych ilości NO_2^- i powstających siarczków. W końcu następuje infiltracja wody w zbiorniku. Jest to prosty i niezawodny sposób obróbki poddenitryfikacyjnej wystarczający do usunięcia biomasy ze zdenitryfikowanej wody. Po infiltracji woda pobierana jest przez studnię po 10-12 tygodniach zatrzymania w glebie. Opisana instalacja pracowała przy obciążeniu $40 \text{ g } NO_3^- / m^3$ reaktora na godzinę i w ciągu godziny denitryfikowała 35 m^3 wody.



Rys. 2. Instalacja DENITROPUR: 1 — pompy wody gruntowej; 2 — dawkovanie fosforu; 3 — zbiornik wodoru; 4 — saturator; 5 — reaktory; 6 — dawkovanie dwutlenku węgla; 7 — dawkovanie flokulantów; 8 — wentylator; 9 — odpływ wody; 10 — pompy wody przemysłowej; 11 — dmuchawa powietrza przepłukującego.

6.2. Denitryfikacja z wykorzystaniem bakterii wodorowych

Bakterie wodorowe po raz pierwszy, zostały wykorzystane do denitryfikacji wody pod koniec lat siedemdziesiątych (25). Opisany proces biologiczny opiera się na denitryfikacji litotroficznej przez bakterie z rodzaju *Paracoccus* i *Alcaligenes*. Bakterie te używają cząsteczkowego wodoru jako donora elektronów, a nieorganiczne jony HCO_3^- , rozpuszczony kwas węglowy i CO_2 są dla nich źródłem węgla nieorganicznego. Pod nieobecność tlenu, lub gdy występuje on w niewielkim stężeniu, akceptorem elektronów stają się azotany, które w ten sposób są redukowane do azotu gazowego. Aby usunąć 100 mg NO_3^- potrzeba ok. 9 mg H_2 . Zgodnie z ogólną reakcją denitryfikacji, na wytworzenie 1 mola gazowego azotu bakterie zużywają ok. 5 moli wodoru (24). W rezultacie denitryfikacja powoduje powstanie podciśnienia. Aby temu zapobiec, należy stale uzupełniać atmosferę reaktora nową dawką wodoru. Denitryfikator, stosowany w tym procesie, zasiedlają porowate nośniki, którymi wypełnia się reaktory. Nośnikami mogą być, np. gąbki poliuretanowe (24) lub podobne tworzywa, zapewniające dużą powierzchnię dla zasiedlenia przez biomasę, a tym samym dużą jej koncentrację w objętości reaktora. Jest to warunek niezbędny, gdyż reakcja denitryfikacji, prowadzona przez bakterie wodorowe przebiega wolno (24,25).

Za przykład rozwiązania konstrukcyjnego może służyć instalacja przemysłowa znana pod nazwą DENITROPUR, która denitryfikuje wodę dla niemieckiego miasta Mönchengladbach (25). Instalacja ta jest udaną próbą zasto-

sowania procesu autotroficznej denitryfikacji prowadzonej przez bakterie wodnorowe do uzdatniania wody pitnej na skalę przemysłową. Układ uzdatnia wodę gruntową produkując 100 m³ wody na godzinę. Dostępna tu woda gruntowa zawiera ok. 80 mg NO₃⁻/l. Jest ona denitryfikowana w instalacji, a następnie mieszana z niedenitryfikowaną wodą gruntową. Ilość usuwanych azotanów wynosi ok. 90 kg NO₃⁻/dobę. Instalację DENITROPUR przedstawiono na rysunku 2.

Woda gruntowa jest pompowana pod ciśnieniem 4-6 bar do urządzenia, w którym następuje wysycenie jej wodorem. Następnie, woda przepływa przez reaktory połączone w dwie serie, po cztery reaktory każda. Dozowanie węgla nieorganicznego i fosforanów może być dokonywane w różnych miejscach systemu. Po przejściu przez układ całkowicie zdenitryfikowana woda przepływa przez przeciwprądową strefę napowietrzania, gdzie następuje jej natlenienie, uwolnienie gazowego azotu oraz uwolnienie nadmiaru wodoru. Po dodaniu flokulantów woda jest filtrowana w dwuwarstwowym filtrze w celu usunięcia komórek bakterii, które w małej ilości mogą pojawić się w odpływie z reaktora. Po filtracji wodę sterylizuje się przez naświetlanie promieniami UV. System DENITROPUR pracował przy przepływie 50 m³/h i usuwał 0,25 kg N-NO₃⁻/m³ reaktora w ciągu doby. Odpowiadało to zmniejszeniu ilości azotanów w wodzie z ok. 80 do ok. 1 mg NO₃⁻/l. Poszczególne reaktory były przemycane co 2-4 tygodnie w celu usunięcia nadmiernej biomasy. Woda popłuczkowa była zbierana, klarowana i filtrowana.

6.3. Złoże fluidalne

Istotą działania tego złoża jest jego ekspansja objętościowa spowodowana szybkim przepływem wody, która unosi cząstki nośnika w górę. Ruch ten powoduje też mieszanie, co prowadzi do równomiernej dystrybucji masy w złożu, ale też powoduje ścieranie biofilmu rosnącego na nośniku. Z tego powodu krytycznym momentem jest początek procesu. Dla zapewnienia optymalnego zasiedlenia złoża stosuje się recyrkulację przy stałej ilości azotanów, węgla organicznego i fosforu. Po pewnym czasie notuje się zwiększoną aktywność mikroorganizmów, a całkowita denitryfikacja zachodzi po odpowiednim zasiedleniu złoża. Jako nośnik stosuje się piasek o średnicy ziaren od 0,2 do 0,5 mm (27). Wielkość ta jest uzależniona od prędkości przepływu i stopnia ekspansji złoża. W celu przyspieszenia formowania biofilmu można użyć kationowego polielektrolitu lub modyfikowanego złoża.

Proces może być prowadzony trzema metodami:

- z kontrolowanym stężeniem azotanów,
- z kontrolowanym stężeniem metanolu,
- przy dodatku organicznego źródła węgla w ilościach przekraczających ilości stechiometryczne (28).

Najkorzystniejszy ekonomicznie jest trzeci wariant. Usuwane są wówczas całkowicie azotany, a w wypływie pojawiają się szczątkowe ilości metanolu. Ograniczenie dodatku metanolu powoduje pojawienie się azotynów i azotanów, zaś przy zmniejszeniu stężenia azotanów pojawia się metanol. Dodat-

kowo, w pewnych przypadkach należy dodawać fosforany, tak aby uzyskać stosunek C/P wynoszący 56/1 (28).

W związku z obecnością śladowych ilości związku redukującego lub resztek azotanów woda po procesie denitryfikacji wymaga dalszych zabiegów technologicznych (np. zastosowanie węgla aktywnego, napowietrzania, chlorkowania). Są to procesy stosowane standardowo w technologii uzdatniania wody.

Poważnym problemem jest ucieczka biomasy z reaktora, co wymaga zastosowania dodatkowych operacji technologicznych, takich jak natlenianie, filtracja i dezynfekcja.

Zwykle reaktor pracuje stabilnie tylko w warunkach nadmiaru źródła węgla organicznego, co może prowadzić do skażenia sieci dystrybucyjnej, szczególnie w mniejszych instalacjach. Podważana jest przy tym celowość stosowania metanolu, ze względu na jego potencjalną szkodliwość i łatwopalność. Jest on jednak najtańszym ze stosowanych reduktorów, ponadto daje najwyższą efektywność redukcji azotanów. Jest on bowiem chętnie wykorzystywany przez mikroorganizmy (28).

Należy zaznaczyć, że reaktor fluidalny ma skomplikowaną budowę i jest trudniejszy w kontroli. Denitryfikacja z użyciem złoża fluidalnego daje jednak powierzchnię biofilmu sięgającą $3000 \text{ m}^2/\text{m}^3$ bioreaktora i gwarantuje dużą szybkość denitryfikacji wynoszącą ok. $160 \text{ g N}/\text{m}^3 \text{ h}$ w temperaturze 10°C (27). Metoda ta jest też tańsza od konkurencyjnej wymiany jonowej (27).

6.4. Złoże stałe

Ze względu na łatwość kontroli procesu i mały stopień skomplikowania instalacji w literaturze można spotkać wiele opisów wdrożeń pilotażowych i przemysłowych z wykorzystaniem złoża stałego. Nośnikiem mikroorganizmów w tym przypadku są ciała stałe o granulacji 10-40 mm (żwir, materiały ceramiczne, polistyren, materiały plastyczne, silikon) (27).

Mikroorganizmy zasiedlają złoże, tworząc cienki biofilm. Część z nich pozostaje zawieszona w przestworach pomiędzy jego granulami. Ze względu na stosunkowo niską szybkość przepływu przez reaktor, problem stanowią zmiany właściwości hydraulicznych bioreaktora przez zaczopowanie złoża (kolmatacja) i tworzenie się kanałów w złożu z szybszym przepływem wody, co zmniejsza również efektywność wykorzystania objętości bioreaktora (29). Aby uniknąć tych niepożądanych zjawisk należy przepłukiwać bioreaktor strumieniem wody w odwrotnym kierunku, co wyłącza czasowo bioreaktor z pracy, zwiększając koszty obróbki wody (27,29).

TABELA 1
PORÓWNANIE ZŁOŻA FLUIDALNEGO I STAŁEGO (27)

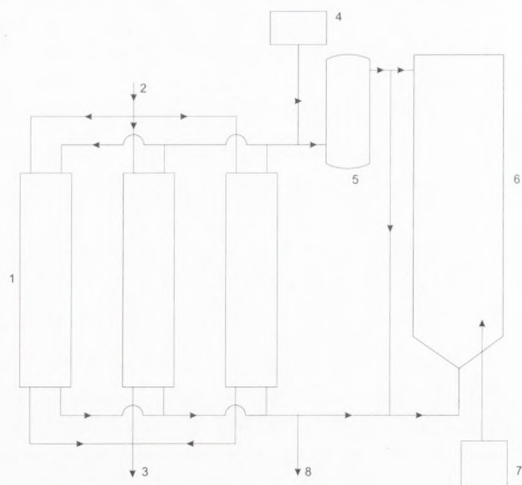
	Złoża stałe	Złoża fluidalne
średnica ziaren nośnika (mm)	10 – 40	2,0 – 0,5
koncentracja biomasy (kg/m ³)	5 – 10	10 – 15
powierzchnia biofilmu (m ² /m ³)	360	3000
wydajność denitryfikacji (g N/m ³ h)		
10°C	12	160
20°C	24	310

6.5. Połączenie wymiany jonowej z biologiczną denitryfikacją

Ze względu na pewne trudności w denitryfikacji biologicznej wynikającej między innymi z małej aktywności bakterii w niskich temperaturach poszukuje się fizykochemicznych metod rozdzielania procesu separacji azotanów połączonych z ich redukcją biologiczną. Jedną z takich metod jest połączenie wymiany jonowej z denitryfikacją biologiczną. Wymiana jonowa jest procesem fizykochemicznym, w którym jony azotanowe są zamieniane za pośrednictwem żywicy anionowej na chlorki lub węglany (30). Po pewnym czasie kolumna zostaje wysycona jonami azotanowymi i musi być zregenerowana. Do regeneracji żywic stosuje się zwykle roztwory NaCl (50-100g/l) lub rzadziej węglany. Produktem jest silnie skoncentrowana solanka zanieczyszczona uwolnionymi anionami. W procesie regeneracji z żywicy jonowymiennej uwalniane są azotany, które ulegają konwersji do azotu cząsteczkowego podczas procesu biologicznego zachodzącego w kolumnie denitryfikacyjnej. Jest to proces zamknięty. Użycie żywicy staje się problematyczne w przypadku wody o dużej zawartości siarczanów, ze względu na to, że liczne żywice jonowymienne są bardziej selektywne dla siarczanów niż azotanów. Ponadto siarczany mogą gromadzić się w obiegu regeneracyjnym i przez to zmniejszać wydajność procesu. Efektywnym rozwiązaniem tego procesu jest zastosowanie żywicy specyficznych dla azotanów lub zastąpienie regeneratu nowym (31).

Połączenie procesów wymiany jonowej i biologicznej denitryfikacji daje następujące korzyści:

- część solanki po procesie denitryfikacji może być zawrócona co zmniejsza ilość potrzebnej soli,
- użycie węglanów powoduje dodatkowe zmniejszenie zapotrzebowania na nie, gdyż są generowane w procesie utleniania związków węgla (reakcje dwutlenku węgla z wodą),
- ze względu na rozdzielanie procesów nie dochodzi do skażenia wody mikroorganizmami denitryfikującymi,
- brak kontaktu wody ze źródłem węgla (30).



Rys. 3. Schemat instalacji łączącej wymianę jonową z biologiczną denitryfikacją (31): 1 — kolumny jonowymiennic; 2 — woda bogata w azotany; 3 — woda uboga w azotany; 4 — roztwór płuczający i dezynfektant; 5 — filtr piaskowy; 6 — reaktor denitryfikacyjny; 7 — źródło węgla i fosforu; 8 — roztwór płuczający.

Jednym z ważniejszych kryteriów regeneracji żywicy jest stężenie solanki. Pamiętać jednak należy, że obecność solanki wiąże się z wysokim ciśnieniem osmotycznym roztworu, które może być zbyt wysokie dla wzrostu bakterii.

Aby zapewnić optymalne parametry procesu należy dobrać właściwą kolumnę jonowymienną. Pod uwagę muszą być wzięte parametry hydrauliczne, korozyjność solanki, możliwości zapewnienia silnego rozwoju mikroflory oraz maksymalnie niskiego poziomu wypływu biomasy, a także łatwość obsługi (30).

Z prowadzonych badań wynika, że najodpowiedniejszym reaktorem do denitryfikacji regeneratu jest reaktor USB (reaktor zawieszinowy) (30). W tym typie bioreaktora mikroorganizmy rosną w formie aglomeratów o średnicy około 2-3 mm. Tworzenie aglomeratów osiąga się poprzez precypitację komórek za pomocą węglanu wapnia. W przypadku reaktora USB jest możliwe użycie takiej samej prędkości przepływu regeneratu jak w kolumnie jonowymienniej, nawet przy wysokim stężeniu azotanów. Wypływ biomasy jest bardzo mały i można go dodatkowo ograniczyć stosując w jego górnej części separator faz. Jest on łatwy w obsłudze i nie wymaga przemywania odwrotnym strumieniem wody (8,31).

Pojawiający się, problem skażenia mikrobiologicznego można rozwiązać przez zastosowanie filtra piaskowego pomiędzy kolumnami denitryfikującą a jonowymienną lub przez zastosowanie dezynfekcji złoża w kolumnie jonowymienniej po odłączeniu kolumny denitryfikującej (30). Przykładem takiej instalacji jest instalacja pilotażowa zbudowana z trzech kolumn jonowymiennych połączonych z reaktorem denitryfikującym (USB) o objętości $3,3 \text{ m}^3$ wyposażonych w filtr piaskowy. Przy przepływie wynoszącym $11 \text{ m}^3/\text{h}$ osiągnięto wydajność denitryfikacji na poziomie 90% (30). Schemat instalacji pokazano na rysunku 3.

Połączenie wymiany jonowej z biologicznym usuwaniem azotanów daje możliwość rozwiązania problemu zanieczyszczenia środowiska. Proces ten umożliwia ominięcie kontaktu wody z mikroorganizmami, co z kolei chroni ściek dystrybucyjną przed skażeniem mikrobiologicznym oraz nie wymaga usuwania bakterii. Ograniczeniem zastosowania tego procesu jest konieczność regeneracji żywic.

TABELA 2

PRZYKŁADY WYKORZYSTANIA DENITRYFIKACJI HETEROTROFICZNEJ DO USUWANIA AZOTANÓW (8)

Przepływ przez instalację	Obecność azotynów	Źródło węgla, dodatki innych substancji	Obróbka po denitryfikacji
80 m ³ /h	<0,05 mg/l	etanol, związki fosforu	węgiel aktywowany, napowietrzanie, koagulant
300 m ³ /h (cztery bioreaktory)		etanol, związki fosforu, NaOH do stabilizacji pH	napowietrzanie, filtracja na węglu aktywowanym, dezynfekcja dwutlenkiem chloru
50 m ³ /h	0,1 mg/l	kwasy octowe, fosforany	węgiel aktywowany, napowietrzanie, koagulant

Jednym ze sposobów ograniczenia przedostawania się komórek do wody pitnej jest immobilizacja mikroorganizmów. Komórki kapsułkuje się w żelu alginianowym, kappa-karagenie lub różnego typu polielektrolitowych substancjach (32-34). Ważnymi czynnikami mającymi wpływ na stabilność kapsułek żelu jest obecność kationów w wodzie oraz powstawanie gazowej formy azotu. Powstające pęcherzyki gazu mogą powodować rozrywanie kapsułek (31).

Na wydajność procesu redukcji azotanów przez immobilizowane bakterie ma wpływ odporność mikroorganizmów na proces immobilizacji oraz parameetry dyfuzji między wodą a wnętrzem żelu. W przypadku alginianu zwiększenie średnicy kulek z 0,5-1,0 mm do 3 mm powoduje spadek aktywności denitryfikacyjnej z 70-80% do 25%. Należy pamiętać, że zbyt małe rozmiary kulek mogą powodować zwiększanie oporów hydraulicznych w bioreaktorze. Zastosowanie systemów z komórkami immobilizowanymi zmniejsza, ale nie rozwiązuje problemu ucieczki biomasy z reaktora. Zjawisko to wiąże się z niekontrolowaną ucieczką biomasy z wnętrza kulek oraz rozwojem biomasy na zewnątrz kulek.

Literatura

1. Lewandowski Z., (1982), *Water Res.*, 16, 19-22.
2. Clifford D., Lin X., (1993), *Jurnal AWWA*, 135, 135-143.
3. Kowal A. L., Polik A., (1986), *Ochrona Środowiska*, 4(30), 13-15.
4. Jeter R. M., Ingraham J. L., (1981), in: *The Procaroyotes*; Ed. Starr M. P., Springer — Verlag Berlin, Heilderberg, New York, 1, 913-925.
5. Claus G., Kutener H. J., (1985), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 22, 289-296.
6. Claus G., Kutener H. J., (1985), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 22, 283-288.
7. John P., Whatley F. R., (1977), *Biochimica, Biophysica Acta*, 463, 129-153.
8. Matějů V., Čižinská S., Krajčí J., Janoch T., (1992), *Enzyme Microb. Technol.*, 14, 170-183.
9. Juszczak A., Domka F., (1989), *Ochrona Środowiska*, 1(38), 31-34.
10. Knowles R., (1982), *Microbiol. Rev.*, 1(46), 43-70.
11. Robertson L. A., Kuenen J. G., (1992), *Microbial Control of Pollution*, Eds. Fry J. C., Gadd G. M., Herbert R. A., Jones C. W., Watson-Craik. Soc. Gen. Microb. Symposium Vol. 48, Cambridge University Press Ltd, Cambridge, 227-267.
12. Kokufuta E., Shimohashi M., Nakamura J. J., (1986), *J. Ferment. Technol.*, 64, 533-538.
13. van der Hoek J. P., Hijnen W. A. M., van Bennekon C. A., Mijnaerends B. J., (1992), *J. Water SRT-Aqua*, 41, 4, 209-218.
14. Alefounder P. R., Ferguson S. J., (1981), *Biochemical Jurnal*, 192, 231-240.
15. Alefounder P. R., Greenfield A. J., McCarthy J. E. G., Ferguson S. J., (1983), *Biochimica, Biophysica Acta*, 724, 20-39.
16. Braester C., Martinell R., (1990), in: *Modern methods of potable water treatment*, Proc. Int. Conf., 22-24.04.1990, Pribram, 213-230.
17. Blecon G., (1985), *Denitrification autotrophique par Thiobacillus denitrificans sur soufre — aspects microbiologiques et mise au point technologique* (rozprawa doktorska), Université de Rennes.
18. Hijnen W. A. M., Koning D., Kruithof J. C., van der Kooij D., (1988), *Water Supply*, 6, 265-273.
19. Kruithof J. C., van Bennecom C. A., Dierx H. A. L., Hijnen W. A. M., van Paassen J. A. M., Schippers J. C., (1988), *Water Supply*, 6, 207-217.
20. Kruithof J. C., van Bennecom C. A., Dierx H. A. L., Hijnen W. A. M., van Paassen J. A. M., Schippers J. C., (1986), *Water Supply*, 6, 207-217.
21. Le Cloirec P., Martin G., (1990), *Aqua*, 39, 16-23.
22. Sibony J., (1983), *La Technique l'eau*, 437, 47-54.
23. van der Hoek J. P., Kruithof J. C., Schippers J. C., Kappelhof J. W. N. M., Hijnen W. A. M., Vis P. I. M., Klapwijk A., (1990), in: *Modern methods of potable water treatment*, Proc. Int. Conf., 22-24.04.1990, Pribram.
24. Dries D., Liessens J., Verstraete W., Stevens P., de Vost P., de Leyt J., (1988), *Water Supply*, 6, 181-192.
25. Gros H., Schnoort G., Rutten P., (1988), *Water Supply*, 6, 193-198.
26. Hicock K. M., Lloyd J. W., Lerner D. N., (1991), *Water Res.*, 25, 9, 1099-1111.
27. Gauntlett R. B., Craft D. G., (1978), *Technical Report TR98 Water Research Centre*, 116-120.
28. Lissens J., Gempore R., Beernaert S., Verstraete W., (1993), *Journal AWWA*, 144-153.
29. Frick.B. R., Richard Y., (1985), *Vom Wasser.*, 64, 145-154.
30. van der Hoek J. P., Klapwijk A., (1987), *Water Research*, 21, 989-997.
31. Clifford D. A., Weber W. J. Jr., (1982), *Phisico-chemical Methods for Water and Waste-water Treatment*, Elsevier, Amsterdam, 179-211.
32. Nilsson J., Ohlson S., (1982), *European. J. Appl. Microbiol. Biotech.*, 14, 86-90.
33. Nilsson J., Ohlson S., Häggström L., Molin N., Mosbach K., (1980), *European. J. Appl. Microbiol. Biotech.*, 10, 261-274.
34. Wijffels R. H., Schukking G. C., Tramper J., (1990), *App. Microbiol. Biotechnol.*, 34, 399-403.

Drinking water denitrification

Summary

Different methods of biological denitrification of drinking water as well as the microbiology and stoichiometry of the process are reviewed. Autotrophic bacteria oxidizing inorganic compounds or heterotrophic species oxidizing organic materials can perform denitrification. This paper reviews the various techniques to determine the advantages and disadvantages of this approach.

Key words:

biological denitrification, microbiology, stoichiometry, potable water, water treatment.

Adres do korespondencji:

Paweł Cyplik, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Akademia Rolnicza, ul. Mazowiecka 48, 60-623 Poznań.